

ÄNDERUNGEN DES GLYKOGENGESHALTES
VON LEBER, MUSKEL UND NIERE
BEI GESUNDEN UND URÄMISCHEN RATTEN
NACH APPLIKATION VON GLUCOSE
UND D-3-PHOSPHOGLYCERAT-NATRIUM

Eleonore Madelung

1964



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548301_0081

ÄNDERUNGEN DES GLYKOGENGEHALTES
VON LEBER, MUSKEL UND NIERE
BEI GESUNDEN UND URÄMISCHEN RATTEN
NACH APPLIKATION VON GLUCOSE
UND D-3-PHOSPHOGLYCERAT-NATRIUM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Eleonore Madelung
aus Stuttgart

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. Dr. E. MATOUSCHEK
Mitberichterstatter: Professor Dr. F. MAY
Dekan: Professor Dr. R. BACHMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 21. 7. 1964



GLIEDERUNG

	Seite
Einleitung	5
I. Biochemie der C-3-Körper	6
II. Methodik	9
III. Ergebnisse	12
IV. Diskussion der Ergebnisse	13
V. Zusammenfassung	16
Literaturverzeichnis	18

Die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Untersuchungen sollen zur Klärung der Frage beitragen, ob und in welchem Ausmaß Änderungen des Glycogengehaltes in Muskel, Leber und Nieren bei weißen, männlichen, gesunden bzw. urämischen Laboratoriumsratten nach Applikation von Glucose bzw. phosphorylierten C-3-Körpern auftreten. Denn es ist von besonderem klinischen Interesse festzustellen, ob die Glycogenbildung aus injizierten Substanzen tatsächlich die für die Kaliumsenkung im Extrazellulärraum bei urämischen Tieren maßgebliche Reaktion darstellt.

Neben den Versuchen an gesunden Tieren galt es, im Experiment ein Krankheitsbild zu reproduzieren, das dem einer Anurie und allen damit verbundenen Stoffwechselstörungen beim Menschen möglichst nahe kommt. Um Nebenwirkungen auf andere Organe zu vermeiden, wie sie nach Injektionen von Lösungen, die eine Anurie verursachen, auftreten können, haben wir bei unseren Versuchstieren die beidseitige Nephrektomie durchgeführt. Es ist bekannt, daß bei Ratten 48 Stunden nach erfolgter Nephrektomie das klinische Bild einer voll ausgeprägten Urämie auftritt, wobei der rasche Anstieg der extrazellulären Kaliumkonzentration als besonderer Ausdruck der Entwicklung und Progression der urämischen Stoffwechselintoxikation angesehen werden kann. Um den durch einen Kaliumanstieg ausgelösten Komplikationen vorzubeugen, bemüht man sich, durch die Applikation von Glucose- oder Salzlösungen einen kaliumsenkenden Effekt zu erzielen. Da aber die Wirksamkeit der vorerwähnten Stoffe nur wenig ausgeprägt und zudem flüchtig ist, brachte man im Tierversuch phosphorylierte C-3-Körper zur Anwendung, Stoffe also, die einerseits energetisch in der Lage sind, über wenige Stufen hinweg energiereiche Phosphatverbindungen aufzubauen und andererseits imstande sind, alkalisierend zu wirken. Dabei zeigt es sich, daß z. B. das 3-Phosphoglycerat-Natrium bei der Hyperkaliämie urämischer Tiere angewandt, in seiner kaliumsenkenden Wirkung den herkömmlichen Infusionslösungen deutlich überlegen ist.

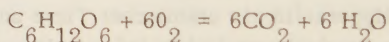
Die dem Körper als Nahrung zugeführten Kohlenhydrate dienen im Verlauf ihrer biochemischen Umsetzungen im Organismus als Energielieferanten für zahlreiche, in der Zelle ablaufende und die Zufuhr von Energie erfordernde Prozesse. Mit der Nahrung werden dem Körper entweder einfache Zucker (meist Mono- und Disaccharide) oder Polysaccharide zugeführt. Hydrolysierende Fermente ermöglichen die Aufnahme höher molekularer Kohlenhydrate erst durch die Aufspaltung in einfache Zucker. Parenteral zugeführte Disaccharide, etwa Milchzucker oder Rohrzucker, werden unverändert im Harn ausgeschieden. Die Absorption der Kohlenhydrate erfolgt zum größten Teil in Form von Monosacchariden.

Der Abbau der Kohlenhydrate unter anaeroben Bedingungen führt im tierischen Gewebe zur Bildung von Milchsäure und wird als Glycolyse bezeichnet. Die Endprodukte des aeroben Abbaues der Kohlenhydrate sind Kohlensäure und Wasser, wobei der aerobe Stoffwechsel zunächst über zahlreiche Stufen der Glycolyse führt und sich von dieser im wesentlichen nur durch die weitere Verwertung der Brenztraubensäure und der reduzierten Coenzyme unterscheidet.

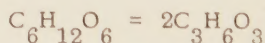
Durch Decarboxylierung im Citronensäure-Zyklus entsteht der größte Teil des Kohlendioxyds, während sich das Wasser in der Atmungskette bei der biologischen Oxydation bildet.

Als Beispiel für den Abbau einfacher Zucker soll zunächst die Verwertung der Glucose erörtert werden.

Wie eingangs schon erwähnt, führt der oxydative, also aerobe Abbau der Kohlenhydrate zu Kohlendioxyd und Wasser (Atmungsreaktion).



Zu Milchsäure führt der partielle Zerfall der Glucose ohne Aufnahme von Sauerstoff (Glycolyse)



Der größte Teil der zugeführten Glucose durchläuft den Abbauweg nach EMBDEN-MEYERHOF und schließlich den Citronensäure-Zyklus. Aber erst nach der Veresterung der Kohlenhydrate mit Phosphorsäure werden diese zerfallsbereit. Da die Glucose aber nicht mit anorganischem Phosphat reagieren kann, übernimmt sie einen Phosphorsäurerest von der Adenosintriphosphorsäure. Der so entstandene Phosphorsäureester ist das Glucose-6-phosphat. Von dieser Verbindung aus geht die Glycogenbildung, auf die später noch eingegangen wird. Durch Phosphohexoisomerase erfolgt bis zu einem Gleichgewichtszustand die umkehrbare Verwandlung in das isomere Fructosephosphat. Durch eine weitere Reaktion mit Adenosintriphosphat

unter Aufnahme eines zweiten Moleküles Phosphat entsteht das Fructose-1, 6-di-phosphat, wobei diese Reaktion durch die Phosphohexokinase katalysiert wird. Die phosphorylierte Hexose zerfällt unter Mithilfe des Fermentes Aldolase weiter in zwei Moleküle Triosephosphat, und zwar in das Phosphoglycerinaldehyd und Phosphodihydroxyaceton, die durch die Trioseisomerase ineinander übergeführt werden können. Durch die Triosephosphat-Dehydrogenase erfolgt die Oxydation von Phosphoglycerinaldehyd.

Unter Freisetzung der Carboxylgruppe wird die Acylphosphatgruppe der 1, 3 Diphosphoglycerinsäure gespalten und die Phosphatgruppe unter Mitwirkung der Phosphoglycerinsäure-Kinase auf Adenosindiphosphat übertragen (Transphosphorylierung). Durch diese Reaktion wird das Adenosintriphosphat, das im Verlauf der Hexokinase-Reaktion Phosphat abgegeben hatte, wieder regeneriert.

Die 3-Phosphoglycerinsäure geht durch intramolekulare Verschiebung mit Hilfe der Phosphoglyceromutase über in die 2-Phosphoglycerinsäure, wobei die Anwesenheit einer katalytisch wirksamen Menge 2, 3-Diphosphoglycerinsäure erforderlich ist.

Das Ferment Enolase bewirkt die Umwandlung der 2-Phosphoglycerinsäure in Phosphoenolbrenztraubensäure, wobei Wasser abgespalten wird. Für diese Enolase-Reaktion ist eine Gleichgewichtskonstante gegeben, was umso bedeutsamer ist, als die Phosphoenolbrenztraubensäure im Gegensatz zur 2-Phosphoglycerinsäure über eine sogenannte energiereiche Phosphatbindung verfügt. Durch Dephosphorylierung der Phosphobrenztraubensäure entsteht Brenztraubensäure, wobei das Phosphat auf Adenosindiphosphat übertragen wird (Pyruvatkinase).

Da alle beschriebenen Reaktionen umkehrbar sind, ist die Resynthese der Hexosen aus Milchsäure möglich, wobei den Phosphorylierungsreaktionen besondere Bedeutung zukommt. Neben der direkten Phosphorylierung des Pyruvats durch Adenosintriphosphorsäure, die sehr ungünstig ist, besteht die Möglichkeit der Bildung von Phosphoenolpyruvat durch phosphorylierende Decarboxylierung des Oxalacetats (UTTER). Durch das "malic enzyme" kann Brenztraubensäure in Oxalessigsäure übergeführt werden. Die Phosphoenolbrenztraubensäure stellt so eine wichtige Zwischenstufe bei der Resynthese von Zucker aus kleinen Molekülen dar, und es ist wahrscheinlich, daß alle Verbindungen, die Kohlenhydrat liefern, direkt oder über die C_4 -Dicarbonsäuren über die Phosphoenolbrenztraubensäure führen. Die zum Aufbau von Glycogen aus Milchsäure notwendige Energie wird durch die Spaltung von Adenosintriphosphat freigesetzt ("energetische Koppelung").

Ergänzend ist zuzufügen, daß Dihydroxyacetonphosphat unter Einfluß des Baranowsky-Fermentes zu α -Glycerophosphat reduziert werden kann. Aus dem α -Glycerophosphat können Phosphatide und Triglyceride weiter synthetisiert werden. Im sogenannten α -Glycerophosphatcyclus wird Wasserstoff aus dem Cytoplasma nach den Mitochondrien transportiert und der Atmungskette zugeführt.

In Leber und Muskel wird Glycogen als Kohlenhydratreserve des Körpers gespeichert. Die Bildung des Glycogens dürfte nicht einfach der Umkehr der Glycogenolyse entsprechen. Um die Polysaccharidketten des Glycogens um ein Glied zu verlängern, wird der Glucoserest aus dem Uridincoferment UDPG mit Hilfe der UDPG-Glycogentransglucosylase als wirksamen Ferment übertragen. Glucose-1-phosphat wird mit UTP unter Abspaltung von anorganischem Pyrophosphat zu Uridindiphosphoglucose übergeführt. Das UDPG reagiert mit einer kleinen Menge vorgebildeten Glycogens als "primer". Durch die UDP-Kinase wird das UDP wieder in UTP übergeführt.

Bei der Glycogenolyse erfolgt die Abspaltung der Glucose als Phosphorsaurester. Glucose-1-Phosphat entsteht aus der Verknüpfung des endständigen Glucoserestes des Glycogens mit Phosphorsäure unter Aufnahme von anorganischem Phosphat. Bewirkt wird diese Reaktion durch das Ferment Phosphorylase. Das Glucose-1-Phosphat trägt den Phosphatrest in Stellung 1 an der reduzierenden Gruppe. Dieser CORI-Ester kann in Glucose-6-Phosphat umgelagert und so dem weiteren Abbau zugeführt werden. Nur für die Leber ist ein spezifisches Enzym bekannt, das aus Glycogen freie Glucose zu bilden vermag.

Die Muskelphosphorylase, das Ferment also, das den α -Glucopyranoserest vom Glycogen auf Phosphat überträgt, existiert in der Form a und b, wobei die Aktivität der letzteren Form nur in Gegenwart von Adenylsäure gegeben ist. Durch das "PR-enzyme" wird die Form a unter Spaltung des Moleküles in die Form b übergeführt. Durch das "converting enzyme" kann die Phosphorylase b in Anwesenheit von ATP durch die Aufnahme von Phosphat wieder in die Phosphorylase a übergeführt werden. Die Phosphorylase a ist aber nicht die vorherrschende Form im ruhenden Muskel (KREBS 1955).

Durch das "inactivating enzyme" wird die Phosphorylase in einen Stoff übergeführt, der in Gegenwart von Adenylsäure nicht aktiv ist.

Durch die Verzweigung der Glycogenmoleküle ist die Wirkung der Phosphorylase begrenzt. Im Zusammenwirken mit der Amylo-1,6-glucosidase kann aber das Glycogen vollständig in ein Gemisch von Glucose-1-phosphat und freier Glucose zerlegt werden.

Als Standardform chemischer Energie im Organismus sind die energiereichen Phosphatverbindungen anzusehen, unter denen an erster Stelle das Adenosintriphosphat zu nennen ist. Bezogen auf die bei der Hydrolyse freiwerdende Energie (ΔF_0) werden die Phosphorsäureverbindungen in zwei Gruppen eingeteilt.

In der ersten Gruppe der sogenannten energiereichen Phosphatbindungen, zu der neben anderen Verbindungen das Adenosintriphosphat, die Phosphoenolbrenztraubensäure und die 1,3-Diphosphoglycerinsäure zählen, beträgt der bei der Hydrolyse begleitende Abfall der freien Energie 7000 - 12000 cal/Mol (PARDEE und

In der zweiten Gruppe, zu der die Glycerophosphate und die Phosphoglycerinsäure zu rechnen sind, ist die Hydrolyse der Zuckerphosphate mit einem wesentlich geringeren Energieabfall verbunden. Die Werte von ΔF_0 liegen hier meist zwischen 2000 - 3000 cal/Mol, mit Ausnahme der 2-Phosphoglycerinsäure ($\Delta F_0 = 4050$ cal/Mol) und des Glucose-1-Phosphates ($\Delta F_0 = 4800$ cal/Mol) (LEUTHARDT).

II. METHODIK

1) Material

- a) Alle Versuche wurden an etwa 4 Monate alten, weißen Laboratoriumsratten durchgeführt, deren durchschnittliches Gewicht zwischen 200 - 250 g lag. Die Ratten wurden vor Versuchsbeginn unter Standardbedingungen mehrere Wochen lang gehalten. Sie erhielten gepreßtes Rattenfutter Murinal und Wasser ad libitum. Um einheitliche Versuchsbedingungen zu erreichen, wurde 8 Stunden vor Versuchsbeginn den Tieren das Futter entzogen.
- b) Bei den Experimenten wurden folgende Substanzen injiziert

1.) Glucose

Summenformel: $C_6H_{12}O_6$

Mol. Gewicht: 180,1

2.) D-3-Phosphoglyzerat-Natrium

Summenformel: $C_3H_4O_7PNa_3$

Mol. Gewicht: 252,1

enzymatisch bestimmter Gehalt an 3-PG:

57,2 % (als freie Säure)

Gehalt an Natrium: 22,1 %.

2) Eingriffe am Tier

a) doppelseitige Nephrektomie

In flacher Äthernarkose wurde nach Anlegen eines Rippenbogenrandschnittes die Niere vorluxiert, von der ihr anhaftenden Kapsel unter Schonung der Nebenniere befreit und nach Unterbindung von Nierenstiel und Ureter mit Catgut entfernt. Der Wundverschluß erfolgte schichtweise mit Catgutnähten. Die Tiere überstanden den beidseitigen Eingriff, der im Mittel 8 - 9 Minuten beanspruchte, sehr gut. Die Operationsmortalität betrug etwa 3 %.

- b) Die Injektion der Lösungen erfolgte in die Schwanzvene der Tiere.
- c) Die nicht nephrektomierten Tiere wurden ohne Narkose dekaptiert. Die urämischen Tiere wurden in flacher Äthernarkose durch Eröffnen der Herzspitze entblutet. Die Entnahme der Gewebe für die Glycogenbestimmung erfolgte bei beiden Tiergruppen mit einer im flüssigen Stickstoff vorgekühlten Aluminiumzange (WOLLENBERGER). Sofort nach der Entnahme wurden die Gewebe in flüssigem Stickstoff gebettet. Muskelgewebe wurde jeweils von der Innenseite des linken Oberschenkels entnommen. Die Excision des Lebergewebes geschah aus dem linken Leberlappen. Bei nicht nephrektomierten Tieren wurde der Glycogengehalt der linken Niere bestimmt.

3) Chemische Analysen

Die Isolierung des Glycogens erfolgte durch dreimaliges Extrahieren im Potter-Elvehjem Homogenisator mit fünfprozentiger Trichloressigsäure. Die Bestimmung des Glycogens wurde nach der Anthronmethode durchgeführt. Bei der Bestimmung wurden folgende Reagenzien verwendet:

- I. Anthron Reagenz:
500 mg Anthron und 10 g Thiohamstoff unter Erwärmen auf $80 - 90^{\circ}\text{C}$ in 1000 ml 72 %-iger Schwefelsäure lösen.
- II. 72 %-ige Schwefelsäure:
280 ml destilliertes Wasser und 720 ml konzentrierte Schwefelsäure p. a. mischen.
- III. 5 %-ige Trichloressigsäure:
5 g Trichloressigsäure mit 100 ml destilliertem Wasser lösen.
- IV. Glucose-Standard-Lösung:
100 mg wasserfreie Glucose oder 110 mg Glucose (DAB 6) in 100 ml gesättigter Benzoesäurelösung lösen. 5 ml dieser Lösung in einem 100 ml Meßkölbchen mit gesättigter Benzoesäurelösung bis zur Marke verdünnen.
- V. Gesättigte Benzoesäurelösung:
10 g Benzoesäure mit 1000 ml destilliertem Wasser 30 Minuten lang schütteln und anschließend filtrieren.

Die Aufarbeitung des Gewebes geschah in folgender Weise.

Isolierung des Glycogens:

Ungefähr 100 mg Gewebe werden genau gewogen und mit 2 ml 5 %-iger Trichloressigsäure 3 Minuten lang homogenisiert, dann 15 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird in ein trockenes Reagenzglas abgegossen. Der Rück-

stand wird auf dieselbe Weise noch zweimal extrahiert und der Überstand jeweils wieder in dasselbe Reagenzglas dazugegossen.

In ein 10 ml Zentrifugenglas wird pipettiert:

1,0 ml Überstand

5,0 ml 95 %-iger unvergällter Alkohol.

Diese Flüssigkeiten werden gut gemischt, das Zentrifugenglas mit einem Stopfen verschlossen und 3 Stunden bei 37°C gehalten. Dann wird bei 3000 U/min 15 Minuten lang zentrifugiert, der Überstand abgegossen und das Zentrifugenglas mit der Öffnung nach unten auf ein Stück Filtrierpapier gestellt, damit die restliche Flüssigkeit ablaufen kann. Der Rückstand wird mit 2,0 ml destilliertem Wasser gelöst.

Bestimmung des Glycogens:

In je ein Reagenzglas wird pipettiert:

Leerwert:

5,0 ml Anthonlösung

1,0 ml destilliertes Wasser

Standard:

5,0 ml Anthronlösung

1,0 ml Standardlösung

Probe:

5,0 ml Anthronlösung

1,0 ml Probelösung

Die Lösungen werden gut durchgeschüttelt und 10 Minuten in ein kaltes Wasserbad gestellt. Dann werden die Gläser genau 15 Minuten in ein kochendes Wasserbad eingebracht und anschließend wieder in ein kaltes Wasserbad gestellt.

Probe und Standard werden gegen den Leerwert bei $578\mu\text{m}$ gemessen.

Die Berechnung geschah nach folgender Formel:

$$\frac{E_{\text{Probe}} \times 0,05 \times 2 \times \text{Extraktvolumen} \times 100 \times 0,9}{E_{\text{Standard}} \times \text{Gewicht des Gewebes in Gramm}}$$

ist gleich mg % Glycogen im Gewebe.

Hierbei ist

E_{Probe} = Extinktion der Probe gemessen gegen Leerwert

E_{Standard} = Extinktion des Standards gemessen gegen Leerwert

0,05 = Glycogenmenge im Standard

2 = Verdünnung

0,9 = Faktor zur Umrechnung von Glucose in Glycogen

Extraktvolumen = Volumen an Trichloressigsäure
mit dem homogenisiert wurde.

- 1.) Zur Prüfung der Verträglichkeit des injizierten 3-Phosphoglyzerats wurde in Vorversuchen je 3 Versuchstieren in die Schwanzvene 50 mg, 100 mg und 200 mg 3-Phosphoglyzerat-Natrium/ 250 g Tier in etwa 6 %-iger Lösung injiziert.

Nach Applikation von 200 mg Substanz starben alle Tiere. Für die Hauptversuche wurde für das 3-Phosphoglyzerat-Natrium als Injektionsdosis die Menge von 100 mg gelöst in 2 ml Aqua dest. entsprechend 0,96 mval Natrium bzw. 308 μ Mol 3-Phosphoglyzerat festgelegt.

An Glucose wurden 45 mg gelöst in 2 ml Aqua dest. entsprechend 250 μ Mol Glucose injiziert, das ist etwas mehr als die Hälfte der äquimolaren C-3-Körpermenge.

Die mit Glucose injizierten Tiere wurden 30 Minuten, 60 Minuten und 120 Minuten p. i., die mit 3-Phosphoglyzerat-Natrium injizierten Tiere 30 Minuten und 60 Minuten p. i. dekaptiert. Die urämischen Tiere wurden einheitlich 120 Minuten p. i. entblutet, da zu diesem Zeitpunkt das Maximum der Kaliumsenkung nachzuweisen war.

- 2.) Meßergebnisse bei gesunden, nicht injizierten Tieren nach 8-stündigem Hungern.

Der Glycogengehalt betrug im Mittel:

in der Leber	bei 9 Tieren	1005 mg %
im Muskel	bei 11 Tieren	399 mg %
in der Niere	bei 10 Tieren	33,3 mg %.

- 3.) Meßergebnisse bei gesunden Tieren nach 8-stündigem Nahrungsentzug und der Injektion von

a) 45 mg Glucose und 30 Minuten p. i.

1.) in der Leber	bei 8 Tieren	2119 mg %
2.) im Muskel	bei 9 Tieren	342 mg %
3.) in der Niere	bei 8 Tieren	35 mg %

b) 45 mg Glucose und 60 Minuten p. i.

1.) in der Leber	bei 13 Tieren	444 mg %
2.) im Muskel	bei 12 Tieren	289 mg %
3.) in der Niere	bei 10 Tieren	68 mg %

c) 45 mg Glucose und 120 Minuten p. i.

1.) in der Leber	bei 9 Tieren	209 mg %
2.) im Muskel	bei 10 Tieren	242 mg %
3.) in der Niere	bei 9 Tieren	23 mg %

d) 109 mg 3-Phosphoglyzerat-Natrium und 30 Min. p.i.

1.) in der Leber	bei 16 Tieren	970	mg %
2.) im Muskel	bei 16 Tieren	324	mg %
3.) in der Niere	bei 15 Tieren	22	mg %

e) 109 mg 3-Phosphoglyzerat-Natrium und 60 Min. p.i.

1.) in der Leber	bei 9 Tieren	113	mg %
2.) im Muskel	bei 9 Tieren	111	mg %
3.) in der Niere	bei 9 Tieren	4,4	mg %

4.) Meßergebnisse bei nephrektomierten Tieren

48 Stunden post operationem

in der Leber	bei 8 Tieren	696	mg %
im Muskel	bei 8 Tieren	329	mg %

5.) Meßergebnisse bei nephrektomierten Tieren

48 Stunden post operationem und 2 Stunden p.i. von

a) 109 mg 3-Phosphoglyzerat-Natrium

1.) in der Leber	bei 9 Tieren	632	mg %
2.) im Muskel	bei 9 Tieren	539	mg %

b) 45 mg Glucose

1.) in der Leber	bei 7 Tieren	749	mg %
2.) im Muskel	bei 7 Tieren	191	mg %

IV. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Den Ergebnissen ist zunächst zu entnehmen, daß sowohl bei gesunden als auch bei operierten Tieren die Werte für die Glycogenkonzentration in der Leber wesentlich höher liegen als im Muskel. Das veranschaulicht die besondere Bedeutung der Leber als Glycogenreservoir, wodurch die Abgabe von Glucose an das Blut bei zuckerverbrauchenden Prozessen durch die Leber ermöglicht wird. Als größter Verbraucher der Glucose ist die Skelettmuskulatur zu nennen, die aber auch ihrerseits beträchtliche Mengen als Glycogen zu fixieren vermag. Gespeist wird das Glycogenreservoir der Leber durch den mit der Nahrung aufgenommenen Zucker oder die Gluconeogenese. Erwartungsgemäß konnten wir deshalb auch nach der intra-venösen Zufuhr von Glucose bei gesunden Tieren nach 30 Minuten in der Leber einen deutlichen Anstieg des Glycogens beobachten. Nach 60 Minuten und 120 Minuten p.i. war die Glycogenkonzentration in der Leber gegenüber den Ausgangswerten aber verringert. Eine Erklärung dafür zu finden, warum die Werte für die Glycogenkonzentration 2 Stunden nach erfolgter Glucose-Injektion gegenüber dem Ausgangswert so stark abgesunken war, ist nicht einfach, mag aber einmal mit dem vermehrten Glucoseabbau des nach der Injektion durch die damit verbundene Manipulation aufgeregt und hungernden Tieres im Zusammenhang stehen. Be-

kanntermaßen kann durch nervöse Impulse eine erhöhte Abgabe von Adrenalin an das Blut erfolgen, wodurch eine Zuckerausschüttung aus der Leber bewerkstelligt wird ("pique" Cl. BERNARD 1855). Zum anderen konnte eine Zunahme der Phosphorylase-Aktivität, wie sie bei hungernden Ratten nach Nahrungszufuhr beobachtet wurde (TOUSTER) als ursächlicher Faktor für den Glycogenabfall diskutiert werden. Die Werte für die Glycogenkonzentration im Muskel 30 Minuten nach erfolgter intravenöser Zufuhr von Glucose waren gegenüber den Ausgangswerten nicht erhöht, was aber insofern nicht überrascht, da gerade der Muskel schon wegen seiner großen Masse als größter Verbraucher der Glucose anzusehen ist. Die Werte für die Glycogenkonzentration im Muskel 120 Minuten post injectionem beim gesunden Tier, waren wohl gegenüber dem Ausgangswert auch etwas erniedrigt, zeigten aber nicht den gleichen steilen Abfall wie in der Leber. Die Konzentrationswerte in der Leber und im Muskel 120 Minuten post injectionem waren fast gleich. Aus diesen Befunden kann möglicherweise geschlossen werden, daß die in der Peripherie verbrauchte Glucose in erster Linie durch einen Abbau des Leberglycogens ersetzt wird, während der Glycogengehalt des Muskels zunächst nicht wesentlich erniedrigt wird.

Bei operierten, urämischen und damit wesentlich länger hungernden Tieren fand sich die Konzentration sowohl an Leber- als auch an Muskelglycogen gegenüber gesunden Tieren erniedrigt, wobei die Werte besonders für das Leberglycogen deutlich abgesunken waren. Auffallend ist es nun, daß 120 Minuten nach intravenöser Zufuhr von Glucose die Werte für die Glycogenkonzentration in der Leber - im Gegensatz zu gesunden Tieren - höher liegen als deren Ausgangswert und auch höher sind als die entsprechenden Vergleichswerte bei gesunden Tieren. Im Muskel dagegen war der Abfall der Glycogenkonzentration post injectionem beim operierten Tier etwa vergleichbar dem Abfall der Werte beim gesunden Tier. Die Ursache für die Erhöhung der Glycogenkonzentration beim operierten Tier 120 Minuten nach erfolgter Glucose-Injektion in der Leber gegenüber dem Leerwert und dem Vergleichswert bei gesunden Tieren dürfte in einem komplexen Geschehen zu suchen sein; denn es ist bekannt, daß während der Urämie Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels vorliegen, ohne daß es gelungen wäre, hierfür eine sichere Ursache zu eruieren. PERKOFF et Al. vermuten als Ursache der verminderten Kohlenhydrattoleranz beim Urämiker eine spezifische Wirkung des Harnstoffs. Sie konnten andererseits aber eine Verminderung der Glucosetoleranz auch durch Änderung der Osmolarität nachweisen. WESTERVELT und SCHREINER sowie COHEN fanden eine Minderung der Glucosetoleranz im Stadium der Hyperazotämie und SAGILD zeigte die Abhängigkeit der Glucosetoleranz von dem Grad der Urämie. Da bei urämischen Tieren aber auch ein deutliches Absinken der Membranpotentiale nachweisbar war, wäre als Ursache der verminderten Glucosetoleranz auch eine Transportstörung der Glucose durch die geschädigte Zellmembran zu diskutieren. Da die Änderung der Membranpotentiale mitbedingt werden durch Verän-

derungen in der Verteilung der Elektrolyte und somit in engem Zusammenhang stehen mit der extrazellulären Kaliumkonzentration, wäre auch die Frage zu klären, ob nicht etwa die Hyperkaliämie während der Uramie einen direkten Einfluß auf die Glycogenbildung ausüben könnte. Diese Frage erscheint umso berechtigter, da STETTEN in Rattenleberstückchen eine Begünstigung der Glycogenese bei hoher Kaliumkonzentration nachweisen konnte.

Nach der Injektion von 3-Phosphoglycerat-Natrium bei gesunden Tieren war es auffallend festzustellen, daß 30 Minuten post injectionem die Werte für das Leberglycogen gegenüber dem Leerwert und dem Vergleichswert, bei den mit Glucose injizierten Tieren deutlich abgesunken waren, eine Tendenz, die nach 60 Minuten noch deutlich nachweisbar war. Auch die Werte für das Muskelglycogen waren besonders 60 Minuten post injectionem abgesunken. Als wahrscheinlichste Ursache für dieses Verhalten ist die hohe Natriumkonzentration der injizierten Lösung anzusehen, da STETTEN eine Erhöhung der Phosphorylase-Aktivität bei gleichzeitig hoher Natriumkonzentration an Rattenleberstückchen zeigen konnte. Bei nephrektomierten Tieren war 120 Minuten post injectionem der Gehalt an Leberglycogen gegenüber dem Leerwert nicht wesentlich verändert, die Werte für den Glycogengehalt der Muskulatur leicht angestiegen. Diese Ergebnisse lassen die Vermutung zu, daß durch die trotz der Injektion des Ester-Phosphats noch immer nachweisbare Hyperkaliämie bei gleichzeitigem Absinken der Serum-Natriumwerte eine Glycogenbildung fördern könnten, was eine Resynthese des Glycogens aus C-3-Körper voraussetzen würde.

V. ZUSAMMENFASSUNG

- 1.) Die Werte für die Glycogenkonzentration in der Leber waren bei gesunden und urämischen Tieren wesentlich höher als die Werte für die Glycogenkonzentration im Muskel.
- 2.) Nach intravenöser Zufuhr von Glucose war bei gesunden Tieren 30 Minuten post injectionem ein deutlicher Anstieg des Leberglycogens zu beobachten, während die Werte 60 Minuten und 120 Minuten post injectionem gegenüber dem Leerwert erniedrigt waren.
- 3.) Die Werte für die Glycogenkonzentration im Muskel bei gesunden Tieren 30 Minuten nach intravenöser Zufuhr von Glucose waren gegenüber dem Ausgangswert nicht erhöht und 120 Minuten post injectionem gegenüber dem Ausgangswert leicht erniedrigt.
- 4.) Bei nephrektomierten urämischen Ratten fand sich die Konzentration sowohl an Leber- als auch an Muskelglycogen gegenüber gesunden Tieren erniedrigt, wobei die Werte besonders für das Leberglycogen abgesunken waren.
- 5.) 120 Minuten nach intravenöser Zufuhr von Glucose waren die Werte bei urämischen Tieren für die Glycogenkonzentration der Leber etwas erhöht, während ein geringer Abfall des Muskelglycogengehaltes zu beobachten war.
- 6.) Nach Injektion von 3-Phosphoglyzerat-Natrium bei gesunden Tieren waren die Werte für den Glycogengehalt der Leber und der Muskulatur deutlich abgesunken.
- 7.) Bei nephrektomierten Tieren war 120 Minuten nach intravenöser Applikation von 3-Phosphoglyzerat-Natrium der Gehalt an Leberglycogen nicht wesentlich verändert, die Werte für den Glycogengehalt der Muskulatur leicht angestiegen.

Herrn Professor Dr. F. May danke ich für sein freundliches Entgegenkommen und förderndes Interesse am Fortgang der Untersuchungen.

Herrn Privatdozent Dr. med. et rer. nat. E. Matouschek danke ich für die Überlassung des Themas und für seine Unterstützung und Beratung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Dr. rer. nat. G. Michal von der Firma F. C. Boehringer und Söhne, Mannheim, Biochemische Abteilung Tutzing, danke ich für seine wertvollen Ratschläge.

- ARENSMEYER, E., MOLINSKI, H. Über den Gehalt an Glykogen und Kalium in Blut, Leber, Muskel und Niere von Ratten nach Hunger, Glucosemast, Insulin und Adrenalineinwirkung. Zschr. f. ges. exp. Med. 122, 564-577 (1954).
- ASHMORE, J., CAHILL, G. F., HASTINGS, A. B., ZOTTU, S. Studies on carbohydrate metabolism in rat liver studies VIII. Effect of ions and hormones on pathway of G-6-P metabolism. Journal. o. biol. chem. 224, 225 (1957).
- ASPINALL, B. Annual Review of Chemistry. Vol. 31 (1962).
- BAIRD, A., HASTINGS, C. T., TENG, F. B., NESBETT, P. M. Carbohydrate metabolism in rat liver slices I. The effect of cations in the media. Jour. o. Biol. Chem. 194, 69 (1952).
- BEHRINGER, A. Über das Glykogen und seinem Einfluß auf den Stoffwechsel der Leber beim Gesunden und beim Diabetiker. D.M.W. 75, 1715 (1950).
- BEERMAN, E. R., WERTHEIMER, E., ELDAR, S. Serum factor in fasted rats inhibiting carbohydrate metabolism in the isolated diaphragm. Amer. J. Physiol. 198, 1078-1078 (1960).
- BOUCOT, N. D., GUILD, A. W. R., MERRIL, J. P. Carbohydrate metabolism in rats with acute uraemia. Amer. J. of Physiol. 192, 30-32 (1958).
- CHARI-BITRON, E., LEPKOVSKY, R. M., LEMMON, R. M., DIMICK, M. K. Conversion of glucose to Glycogen after ingestion of high carbohydrate diet. Amer. J. of Physiol. 198, 787-792 (1960).
- CLARK, C., GOODLAD, G. A. J., MUNRO, H. N. Changes in the levels of ATP and glycogen in liver caused by protein administration. NATURE (Lond.) 186, 719-720 (1960).
- FLÜCKIGER, E., VERZAR, F. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Desoxycorticosteron und Hydrocortison auf den Kohlenhydrat-Natrium- und Kaliumstoffwechsel des isolierten Muskels. Helvet. Physiol. Acta 15, 293-303 (1957).

- HANSON, R.W., SCHWARZ, H.S., BARKER, S.B. "Free" and "fixed" glycogen as physiological enteties. *Amer. J. of Physiol.* 198, 800-806 (1960).
- HASTINGS, A.B., TENG, C.T., NESBETT, F.B., SINEX, F.N.
Studies on carbohydrate metabolism in rat liver slices.
I Effect of cations. *J. of Biol. Chem.* 194, 69 (1952).
- v. HOLT, C., SCHMIDT, H., FELDMANN, H., HALLMANN, I.
Der Umsatz der Blutglucose. *Biochem. Zschr.* 334, 521-533 (1961).
- HOLZER, H. Carbohydrate metabolism. *Annual Review of Biochem.* 1959.
- HORECKER, B. Direkte Glucose Oxidation. *Annual Review of Biol. Chem.* 24, 229 (1955).
- ILLIG, H.H., v. ÜXKÜLL, T., WAGNER, H.H.
Der Leberglycogengehalt nach subcutaner Insulingabe.
Zschr. f. d. ges. exper. Med. 132, Heft 1 (1962).
- JAHRMÄRKER, H. Über die Anwendung serologischer Methoden zur Charakterisierung von Glycogenfraktionen. *Ver. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 63, 537-540 (1957).
- KARLSON, P. Biochemie. G. Thieme-Verlag, Stuttgart (1961).
- KORITZ, S.B., MUNCK, K. Concerning "free" and "fixed" glycogen in rat liver. *Biochem. biophys. Acta (Amst.)* 39, 543-545 (1960).
- LANDAU, B.R., MAHLER, R., ASHMORE, J., ELWYN, D., HASTINGS, A.B., ZOTTU, F. Cortisone and the regulation of hepatic gluconeogenesis. *Endocrinology* 70, 47-53 (1962).
- LEUTHARDT, F. Lehrbuch der physiologischen Chemie. W. de Gruyter u. Co., Berlin 1963.
- LELOIR, L.F., GOLDEMBERG, F. Synthesis of glycogen from Uridine-diphosphate-glucose in liver. *J. biol. chem.* 235, 919 (1960).
- LAUBER, H.J., BERSIN, T.H. Das Verhalten des Leberglycogens während der Äthemarkose. *Klin. Wschr.* 18 (1939).
- MAGYAR, I., VAGO, E., JELLINEK, H. Kohlenhydratstoffwechsel und Kalium. *Magy. belorv. Arch.* 9, 190-123 (1956).
- MERICK, A.W. Potassium and its effect on glycogen in the dog heart. *Circulation res.* 9, 1-6 (1961).

- NADKARNU, G. B., FRIEDMANN, B., WEINH... S.
Gluconeogenesis from glycine and serin in the rat.
J. biol. Chem. 235, 420-425 (1960).
- RAJAGOPALAN, K. V., FRIDOVICH, I., HANDLER, P.
Competitive inhibition of enzyme activity by urea.
J. biol. Chem. 236, 1059-1065 (1961).
- RYBOVA, R.
The effect of ions on glycogen synthesis and water content
of brain cortex slices. Physiol. bohemoslov. 9,
116-121 (1960).
- SCHMIDT, H., GOETZ, K., PALLMANN, v. HOLT, C.
Der Ablauf der Resynthese von Blutglucose. Biochem.
Zschr. 334, 534-544 (1961).
- STETTEN, W.
Certain aspects of the metabolism of glycogen. Diabetes
6, 391-401 (1957).
- VILLAR-PALASI, C., LARNER, J. Insulin treatment and increased UDPG-
Glycogen transglucosylase activity in muscle.
Arch. Biochem. 86, 270-370 (1960).
- VILLAR-PALASI, C., LARNER, J. Levels of the glycogen enzyme activity in rat
tissue. Arch. Biochem. 94, 436-442 (1961).
- WHELAN, W. J.
Recent advances in the biochemistry of glycogen and starch.
Nature (Lond.) 190, 954-957 (1961).

LEBENS LAUF

Eleonore Madelung, geboren am 10.11.1938 in Stuttgart als Tochter des Hochschulprofessors Dr. Georg Madelung und seiner Frau Elisabeth, geb. Messerschmitt. Besuch der Volksschule in Stuttgart und in Washington, U. S. A.. Reifeprüfung am Hölderlin Gymnasium in Stuttgart 1957. Studium der Medizin in München. Beendigung des Staatsexamens in München im Dezember 1963. Nunmehr tätig als Medizinalassistentin.

